

牛脱灰骨由来骨形成因子に関する実験的研究

著者	大山 治
号	11
学位授与番号	45
URL	http://hdl.handle.net/10097/36082

氏名（本籍）	おお やま おさむ 大 山 治
学 位 の 種 類	歯 学 博 士
学 位 記 番 号	歯 博 第 4 5 号
学位授与年月日	昭 和 6 1 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
研 究 科， 専 攻	東北大学大学院歯学研究科 （博士課程）歯学臨床系
学 位 論 文 題 目	牛脱灰骨由来骨形成因子に関する実験的研究

（主査）

論文審査委員	教授 手 島 貞 一	教授 林 進 武
		教授 小 倉 保 己

論文内容要旨

脱灰骨基質やある種の骨肉腫細胞中には、未分化間葉系細胞に作用して軟骨細胞への分化を促し、最終的には骨組織を誘導する物質（骨形成因子＝Bone Morphogenetic Protein，以下BMP）が存在することが近年明らかとなっている。

この研究は、異種脱灰骨基質の含有するBMP活性を検索する目的で、ウシ及びヒト脱灰骨のラット頭頂部骨膜下移植実験を行い、軟骨・骨形成頻度を同種脱灰骨と比較した。次いで、ウシ脱灰骨からBMP活性画分を抽出、部分精製し、ラット筋肉内投与による活性検定及びSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動による分子量の推定、更にラット頭頂部骨膜下への投与実験を行った。

その結果、以下のことが明らかとなった。

- 1) 脱灰骨の骨誘導能には種特異性が認められなかった。
- 2) 但し、異種脱灰骨による骨形成の頻度は同種に比べて少なく、形成時期も遅れる傾向にあった。
- 3) ウシ脱灰骨に含有されるBMP活性画分は4 M塩酸グアニジンまたは6 M尿素で可溶化され、脱イオン水透析により沈澱として回収された。
- 4) BMP活性画分はリン酸濃度が0.15Mの6 M尿素中でハイドロキシアパタイトに吸着し、0.25 Mリン酸濃度で溶出した。
- 5) 活性画分をラット筋肉内に投与すると3週後に軟骨形成と一部に類骨形成を認めたが、他の画分やアルブミン投与群では認められなかった。
- 6) 電気泳動所見からウシ脱灰骨由来BMPの分子量は約18,000と推定された。
- 7) 活性画分をペレット状にしてラット骨膜下に埋入投与した場合、2週後には旺盛な軟骨形成が、3週後には骨髄を伴う骨形成が認められた。
- 8) 活性画分を懸濁液状として骨膜下に注入投与した場合、一部の個体では骨形成が認められたが、骨形成頻度はペレット群に比べ少なかった。
- 9) BMPを骨形成移植材料として臨床応用するためには何らかのcarrierが必要と考えられた。

審 査 結 果 要 旨

口腔外科領域では顎骨に欠損を生じる疾患が多く、その修復、再建に苦慮する場合がある。この際、組織の自己修復能を上まわるような大きな骨欠損部に対しては新鮮自家骨移植が行われているが、骨採取部に余計な手術侵襲を加えること、採取量に制限がある等の欠点がある。自家骨に代わる移植材料としては、古くから同種又は異種の保存処理骨が研究されており、一部は臨床的にも応用されている。著者はこれらの処理骨の中でも、骨誘導性が良好とされている Urist の 0.6 N 塩酸脱灰骨に着目し、脱灰骨基質中に含まれる骨形成因子（Bone Morphogenetic protein）の生物学的性質について基礎的研究を行った。

実験方法としては、ウシ及びヒト脱灰骨のラット頭頂部骨膜下移植により各々の脱灰骨による骨形成を確認した上で、ウシ脱灰骨からの骨形成因子活性画分の抽出、部分精製とラット筋肉内での活性検定及び SDS 電気泳動による骨形成因子の分子量の推定、更に、骨膜下への投与実験を行った。

その結果、1) 脱灰骨の骨膜下移植では、異種脱灰骨による骨形成頻度は同種脱灰骨に比べて少なく、形成時期も遅れる傾向にあったが、同種脱灰骨と同様の軟骨性骨形成が認められた。2) 骨形成因子活性画分はウシ脱灰骨から 4 M 塩酸グアニジンで抽出され、脱イオン水透析により沈澱として回収された。3) 活性画分はリン酸濃度が 0.15M の 6 M 尿素中でハイドロキシアパタイトに吸着しリン酸濃度が 0.25M で溶出した。4) 活性画分を筋肉内に投与すると、3 週後に軟骨形成と一部に類骨形成が認められた。5) 電気泳動所見からウシ脱灰骨由来骨形成因子の分子量は約 18,000 と推定された。6) 活性画分をペレットとして骨膜下に投与すると 2 週後に軟骨形成が、3 週後に骨形成が認められた。7) 活性画分を懸濁液として骨膜下に注入投与した場合には一部の個体で骨形成が認められたが、骨形成頻度はペレット群に比べ少なかった。

以上により、臨床的には将来、骨形成因子を利用した骨形成性移植材料の開発の可能性が示唆された。また一方基礎的研究面では、骨形成因子による異所性骨化の実験モデルとして有用であり、骨形成因子の物性、存在部位、作用機序等が解明されることにより、軟骨、骨組織の代謝、発生、分化に関する理解もより一層深まるものと思われる。

本研究は骨形成因子研究によるこれらの可能性を示したものとして意義が大きく、よって本論文は学位の授与に値するものと認める。